



PCT/FR 2004 / 050140

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

REC'D	09 JUL 2004
WIPO	PCT

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 03 JUIN 2004

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Martine PLANCHE'.

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

SIEGE
INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIETE
INDUSTRIELLE
26 bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr





INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg - 75800 Paris Cedex 08

Pour vous informer : INPI DIRECT

N° Indigo 0 825 83 85 87

0,15 € TTC/m

Télécopie : 33 (0)1 53 04 52 65

Réserve à l'INPI

REMISE DES PIÈCES

DATE 69 INPI LYON

LIEU

0304262

N° D'ENREGISTREMENT

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE

PAR L'INPI

- 7 AVR. 2003

Vos références pour ce dossier

(facultatif) THERMASPI

BREVET D'INVENTION
CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

N° 11354*03
REQUÊTE EN DÉLIVRANCE
page 1/2

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 @ W / 030103

1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE BIOMERIEUX Département de la Propriété Industrielle Chemin de l'Orme 69280 MARCY L'ETOILE													
2 NATURE DE LA DEMANDE <small>Cochez l'une des cases suivantes</small> <table border="0"> <tr> <td>Demande de brevet</td> <td><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Demande de certificat d'utilité</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Demande divisionnaire</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><i>Demande de brevet initiale</i></td> <td>N° _____ Date _____</td> </tr> <tr> <td><i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i></td> <td>N° _____ Date _____</td> </tr> <tr> <td>Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i></td> <td>N° _____ Date _____</td> </tr> </table>		Demande de brevet	<input checked="" type="checkbox"/>	Demande de certificat d'utilité	<input type="checkbox"/>	Demande divisionnaire	<input type="checkbox"/>	<i>Demande de brevet initiale</i>	N° _____ Date _____	<i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i>	N° _____ Date _____	Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>	N° _____ Date _____
Demande de brevet	<input checked="" type="checkbox"/>												
Demande de certificat d'utilité	<input type="checkbox"/>												
Demande divisionnaire	<input type="checkbox"/>												
<i>Demande de brevet initiale</i>	N° _____ Date _____												
<i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i>	N° _____ Date _____												
Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>	N° _____ Date _____												
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) Procédé de détection et/ou d'identification de bactéries présentes dans un échantillon													
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE													
Pays ou organisation Date _____ N° _____ Pays ou organisation Date _____ N° _____ Pays ou organisation Date _____ N° _____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé « Suite »													
5 DEMANDEUR (Cochez l'une des deux cases)													
<input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique													
Nom ou dénomination sociale bioMérieux													
Prénoms													
Forme juridique S.A.													
N° SIREN 16 7 3 6 2 0 3 9 9													
Code APE-NAF _____													
Domicile ou siège	Rue	Chemin de l'Orme											
	Code postal et ville	16 9 2 8 0 MARCY L'ETOILE											
	Pays	FRANCE											
Nationalité Française													
N° de téléphone (facultatif) 04.78.87.53.28 N° de télécopie (facultatif) 04.78.87.21.16													
Adresse électronique (facultatif) catherine.duret@eu.biomerieux.com													
<input type="checkbox"/> S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé « Suite »													

Remplir impérativement la 2^{me} page



BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE page 2/2

BR2

REPRISE DES PIÈCES	
DATE 69 INPI LYON	
LIEU	0304262
N° D'ENREGISTREMENT	
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI	

DB 540 W / 210602

6 MANDATAIRE	
Nom DENJEAN	
Prénom Frédérique	
Cabinet ou Société bioMérieux	
N °de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel PG 10870	
Adresse	Rue Chemin de l'Orme
	Code postal et ville 69218 MARCY L'ETOILE
	Pays FRANCE
N° de téléphone (facultatif) 04.78.87.75.70	
N° de télécopie (facultatif) 04.78.87.21.16	
Adresse électronique (facultatif) frédérique.denjean@eu.biomerieux.com	
7 INVENTEUR(S)	
Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques.	
<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'Inventeur(s)	
8 RAPPORT DE RECHERCHE	
Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation).	
<input checked="" type="checkbox"/> Etablissement immédiat ou établissement différé	
Paiement échelonné de la redevance (en deux versements)	
Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt	
<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES	
Uniquement pour les personnes physiques	
<input type="checkbox"/> Requise pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence). AG _____	
10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS	
<input type="checkbox"/> Cochez la case si la description contient une liste de séquences	
Le support électronique de données est joint La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes	
11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)	
Frédérique DENJEAN Ingénieur Brevets 	
VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI	

La présente invention concerne un procédé de détection et/ou d'identification de bactéries présents dans un échantillon, liquide ou solide. L'invention concerne également un dispositif de détection et/ou d'identification de bactéries présents dans un tel échantillon.

5 L'identification de bactéries dans les aliments, est indispensable pour la santé publique. Par exemple, les bactéries de genre *Salmonella*, qui peuvent être trouvées dans une grand nombre d'aliments, sont la cause de nombreuses pathologies chez l'homme (fièvre typhoïde, intoxication alimentaire). De même, l'isolement et l'identification de la bactérie *Listeria* est une obligation majeure de la surveillance de 10 l'hygiène agro-alimentaire et de la bactériologie médicale. Ainsi, parmi les bactéries du genre *Listeria*, l'espèce *Listeria monocytogenes*, connue pour être pathogène pour l'homme peut engendrer la listériose, parfois mortelle (25 à 30 % des cas) chez les personnes immunodéprimées, les enfants en bas âge. Il est donc très important de disposer d'un test fiable et rapide permettant de détecter les contaminations par ces 15 bactéries, lequel test doit être à la fois sensible et spécifique. Enfin, l'identification de bactéries du genre Staphylocoque est également primordial. La plupart de ces espèces sont des pathogènes opportunistes chez l'homme présentant un risque élevé en cas de blessure cutanée par un traumatisme ou par implantation directe d'un produit médical. D'ailleurs, l'espèce *Staphylococcus aureus* est une bactérie qui se retrouve souvent 20 chez des patients qui doivent recevoir des soins hospitaliers faisant intervenir des appareils tels que seringues ou cathéters. Il y a donc un grand intérêt de détecter la présence de cette bactérie pathogène, de plus en plus impliquée dans les maladies nosocomiales.

Il existe actuellement de nombreux tests de détection de bactéries. D'une 25 manière générale, ces tests de détection nécessite un préenrichissement comprenant :

- une étape de ressuscitation, permettant aux bactéries de récupérer du stress induit par la mise en culture et
- une étape de croissance exponentielle bactérienne, qui est indispensable lorsque peu de bactéries sont initialement présent dans l'échantillon et

- une étape de détection des bactéries, qui doit être préférentiellement réalisée au pic de croissance bactérienne, et avant l'apparition de la phase de mort bactérienne, qui est observée lors de toute culture bactérienne.

A titre indicatif de méthode de détection de bactéries, on peut citer le procédé de détection de *Salmonella* décrit dans le brevet US-A-4,563,418, qui est basé sur une immunoprécipitation. La détection de ces bactéries s'effectue, après l'étape de pré enrichissement et de croissance bactérienne, après migration dans un milieu de culture pré enrichi en *Salmonella* et une réaction avec des anticorps dirigés contre les *Salmonella*. On peut citer également une méthode comparable, basée également sur une immunoprécipitation qui est présentée dans le brevet US-A-5,132,229. Dans ces méthodes, l'utilisateur doit toutefois réaliser manuellement une étape de transfert du milieu de culture, pré enrichi en bactéries, vers le gel de migration, ce qui peut induire des problèmes notamment de contamination mais également des risques pour la santé du manipulateur.

On peut également citer des méthodes plus récentes, basées principalement sur la migration des bactéries à travers un milieu sélectif de l'espèce de bactéries que l'on souhaite spécifiquement détecter. Ainsi, la demande de brevet EP-A-0.259.116 présente un procédé pour détecter la présence de *Salmonella* dans un échantillon, le procédé comprenant la migration des *Salmonella* présentes dans un milieu de culture pré enrichi vers un milieu sélectif, spécifique des salmonelles. Les salmonelles migrent alors vers le système de détection, permettant leur identification, alors que les autres bactéries susceptibles d'être présents dans l'échantillon sont stoppés par le milieu sélectif. Toutefois, dans ce procédé, le milieu de culture reste en contact avec le milieu sélectif et le système de détection, ce qui constitue le problème majeur de ce type de procédé. Ainsi, si l'échantillon est fortement contaminé, les bactéries, autres que les salmonelles présentes dans le milieu de culture, peuvent alors saturer le milieu sélectif, qui ne joue plus alors son rôle de barrière sélective. La présence de bactéries, autres que les salmonelles, dans le système de détection peut alors constituer un faux positif: on détecte un système de détection positif alors que l'échantillon n'est pas contaminé en salmonelles. De plus, le procédé tel que décrit dans cette demande ne peut être mis en œuvre que pour des bactéries motiles.

La présente invention se propose de résoudre l'ensemble des inconvénients de l'état de la technique en présentant notamment un procédé pour la détection et/ou l'identification de bactéries, nécessitant peu de manipulations de la part du manipulateur, du milieu de culture comprenant les bactéries, tout en permettant un diagnostic rapide, directement depuis le milieu de culture, que l'on peut mettre aisément en place lors de la phase de croissance exponentielle bactérienne.

Avant d'aller plus avant, les définitions suivantes permettront de mieux comprendre la suite de l'exposé de l'invention.

10 Par échantillon, on entend un échantillon alimentaire, issu de tout type d'aliment, mais aussi un échantillon clinique, issu d'un prélèvement de liquide biologique. Cet échantillon peut être ainsi liquide ou solide et on peut citer d'une manière non limitative, un échantillon alimentaire d'eau, de boissons tels que le lait, un jus de fruits; échantillon clinique de sang, de plasma, d'urines, de fécès, un échantillon alimentaire de yaourt, de viande, d'œufs, légumes, mayonnaise, fromage; poisson..., un échantillon alimentaire issue d'une alimentation destinée aux animaux, tel que notamment un échantillon issu de farines animales

20 Par premier récipient, on entend tout type de contenant susceptible de recevoir un milieu de culture, tel que notamment un flacon, une bouteille, un sac Stomacher®... Il peut être avantageux que ce premier récipient tolère une variation de pression, lors notamment d'une variation de température. Ainsi, si le premier récipient est fabriqué dans un matériau solide (telle qu'une bouteille en verre), il est avantageux que ce premier récipient soit ouvert, ou soit munie d'une valve permettant une variation de pression. Lorsque le premier récipient est fabriqué dans un matériau flexible, tel que notamment, un sac Stomacher®, il peut être ouvert ou fermé, puisque la variation de pression est permise par la flexibilité du matériau.

25 Par milieu de culture, on entend un milieu comprenant tous les éléments nécessaires à la viabilité et à la croissance des cellules. Un tel milieu de culture est bien connu de l'homme du métier, qui pourra aisément choisir le milieu de culture le plus adéquat quant aux bactéries qu'il souhaite détecter.

Par milieu sélectif, on entend un milieu permettant de sélectionner les bactéries qui doivent réagir avec le système de détection des bactéries. Lorsque l'on souhaite sélectionner par exemple une bactérie donnée, le milieu sélectif comprend un antibiotique dirigé contre les autres espèces bactériennes, susceptibles d'être présentes dans l'échantillon, et que l'on ne veut pas détecter. Un autre exemple consisterait en ce que ce milieu sélectif comprend un composé toxique contre certains bactéries particuliers. On peut utiliser encore un milieu restrictif nutritionnellement pour certaines bactéries. De tels milieux sélectifs sont bien connus de l'homme du métier qui choisira un milieu sélectif approprié en fonction de l'échantillon et des bactéries qu'il souhaite analyser. Ce milieu sélectif peut être mélangé au milieu de culture ou isolé dans un deuxième récipient comprenant le système de détection.

Par deuxième récipient, on entend tout type de contenant susceptible de recevoir au moins un système de détection tel que défini ci-dessous. Ce deuxième récipient est préférentiellement dans un matériau suffisamment rigide, pour que son volume reste constant lorsqu'on applique à l'intérieur de ce deuxième récipient, une diminution de température. Ce deuxième récipient peut être compris dans le premier récipient afin que l'utilisateur ne dispose que d'un seul dispositif comprenant l'ensemble des moyens nécessaire à la détection et/ou à l'identification de bactéries.

Par système de détection, on entend un système qui permet de mettre en évidence la présence d'un bactérie donné. Un tel système est bien connu de l'homme du métier et on peut citer, à titre indicatif, un système de détection comprenant un substrat chromogénique, fluorogénique, basé sur la détection d'une immunoprécipitation, une immunochromatographie, un indicateur de pH, un produit précipitant... Cette détection peut être directe, c'est-à-dire par détection du bactérie, ou indirecte, par détection notamment d'un métabolite libéré par ledit bactérie.

Par moyen de transfert, on entend tout moyen permettant le transfert d'un milieu liquide compris dans un premier récipient vers un deuxième récipient. Ce moyen de transfert et le deuxième récipient peuvent être indépendant, ou constituer une pièce unique.

Ainsi, l'invention présente un procédé de détection et/ou d'identification de bactéries présents dans un échantillon, liquide ou solide, caractérisé en ce que :

- a. on place, dans un premier récipient, l'échantillon susceptible de contenir lesdites bactéries dans un milieu de culture liquide,
- b. on dispose d'un deuxième récipient comprenant au moins un système de détection desdites bactéries,
- 5 c. on dispose d'un moyen de transfert entre le premier récipient et le deuxième récipient,
- d. on applique une température T1 à l'intérieur du deuxième récipient puis,
- e. on applique une température T2 à l'intérieur du deuxième récipient
- 10 f. la température T1 est supérieure à la température T2 de sorte que l'on transfert un volume défini de milieu de culture du premier récipient vers le deuxième récipient ,
- g. on détermine la présence ou l'absence de bactéries et/ou on identifie les bactéries au niveau du système de détection.

Les bactéries peuvent être notamment d'une manière non limitative les bactéries du genre *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Niesseria*, *Legionella*, *Mycobacterias*, *Campylobacter*, *Listeria*...

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, le moyen de transfert comprend au moins une première ouverture au niveau du premier récipient et au moins une deuxième ouverture au niveau du deuxième récipient.

20 Il est bien entendu que le transfert entre le premier récipient et le deuxième récipient ne s'effectue pas spontanément. Il faut par exemple que la première ouverture au niveau du premier récipient soit situé au dessous de la deuxième ouverture au niveau du deuxième récipient, afin d'éviter tout transfert spontanée par gravité. Ce transfert spontané peut être évité également lorsque le moyen de transfert est un conduit non capillaire, empêchant tout transfert spontanée entre le premier récipient et le deuxième récipient par simple capillarité. Le diamètre interne de ce conduit peut être compris notamment entre 0,1 et 5 mm, préférentiellement entre 0,5 et 2 mm.

Préférentiellement, le deuxième récipient circonscrit un premier volume d'air entre la deuxième ouverture et le système de détection et/ou le moyen de transfert circonscrit un deuxième volume d'air entre la première ouverture et la deuxième ouverture. Si le deuxième récipient comprend en outre, entre la deuxième ouverture du moyen de

transfert et le système de détection, un milieu sélectif, le volume d'air est préférentiellement circonscrit entre la deuxième ouverture du moyen de transfert et le milieu sélectif.

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, le deuxième récipient et le moyen de transfert sont dans des matériau suffisamment rigide pour rester à un volume constant lors d'une variation de température. Ainsi, lorsqu'on passe d'une température T1 à T2, le premier volume d'air, et/ou le deuxième volume d'air agissent comme un poumon d'aspiration en subissant une diminution de pression.

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, T1 est compris entre 20 et 45°C, et plus préférentiellement entre 30 et 42°C ; T2 est compris entre 4 et 30 °C, préférentiellement entre 13 et 18°C.

Lors de l'étape f) le volume défini que l'on transfert est notamment dépendant de la différence de température que l'on applique, ainsi que du deuxième volume d'air. Le volume défini que l'on transfert peut être notamment compris entre 100 et 1000 µl, et préférentiellement entre 400 et 600 µl. Ainsi, à titre indicatif, lorsque la différence de température ($T_2 - T_1$) est de 22°C, et que $T_1 = 15^\circ\text{C}$ et $T_2 = 37^\circ\text{C}$, une volume de 350 µl est transféré du premier récipient vers le deuxième récipient. Il est également possible de réaliser les étapes d) à f) plusieurs fois, afin de transférer, en plusieurs fois, le volume défini permettant la détection des bactéries.

20 Lors de l'étape g), la détermination de la présence ou l'absence de bactéries et/ou l'identification des bactéries dépend du système de détection qui est utilisé.

Selon une variante de réalisation de l'invention, on effectue, entre l'étape a) et l'étape b), un étape de pré enrichissement qui consiste à augmenter le nombre de bactéries que l'on souhaite détecter. Une telle étape de pré enrichissement est bien connue de l'homme du métier, qui l'adaptera aisément selon les bactéries qu'il souhaite détecter.

25 Selon un mode particulier de réalisation de l'invention, le deuxième récipient est compris dans le premier récipient.

30 L'invention concerne également un procédé de détection et/ou d'identification de bactéries présentes dans un échantillon, liquide ou solide, caractérisé en ce que :

- a. on place, dans un premier récipient, l'échantillon susceptible de contenir lesdites bactéries dans un milieu de culture liquide, tel que défini précédemment,
- b. on dispose d'un deuxième récipient comprenant au moins un système de détection desdites bactéries, tel que défini précédemment,
- c. on dispose d'un moyen de transfert entre le premier récipient et le deuxième récipient, tel que défini précédemment,
- d. on applique une température T1 à l'intérieur du premier récipient puis,
- e. on applique une température T2 à l'intérieur du premier récipient
- f. la température T1 est inférieure à la température T2 de sorte que l'on transfert un volume défini de milieu de culture du premier récipient vers le deuxième récipient ,
- g. on détermine la présence ou l'absence de bactéries et/ou on identifie les bactéries au niveau du système de détection.

15 Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, le deuxième récipient et le moyen de transfert sont dans des matériaux suffisamment rigides pour rester à un volume constant lors d'une variation de température.

20 L'invention concerne également un dispositif de détection et/ou d'identification de bactéries dans un échantillon comprenant

- un deuxième récipient comprenant au moins un système de détection, et
- au moins un moyen de transfert entre un premier récipient et le deuxième récipient, ledit moyen de transfert comprenant au moins une première ouverture au niveau du premier récipient et au moins une deuxième ouverture au niveau du deuxième récipient.

25 Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, le deuxième récipient circonscrit un premier volume d'air entre la deuxième ouverture et le système de détection et/ou le moyen de transfert circonscrit un deuxième volume d'air entre la première ouverture et la deuxième ouverture, lesdits premier et deuxième volumes d'air agissant comme un poumon d'aspiration lorsqu'on applique une diminution de température au sein notamment du deuxième récipient.

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, le premier récipient et le moyen de transfert sont dans des matériaux suffisamment rigides pour rester à un volume constant lors d'une variation de température.

5 Selon un mode particulier de réalisation de l'invention, la première ouverture au niveau du premier récipient est en position inférieure par rapport à la deuxième ouverture au niveau du deuxième récipient, afin d'éviter notamment tout transfert par pesanteur entre le premier récipient et le deuxième récipient.

10 Selon un autre mode de réalisation de l'invention, la première ouverture au niveau du premier récipient et la deuxième ouverture au niveau du deuxième récipient constitue la même ouverture. Dans ce mode de réalisation, le moyen de transfert se limite alors à cette même ouverture.

Selon un mode particulier de réalisation de l'invention, le moyen de transfert est un conduit non capillaire, afin d'éviter notamment tout transfert par simple capillarité entre le premier récipient et le deuxième récipient.

15 Selon un mode particulier de réalisation de l'invention, le dispositif tel que défini ci dessus comprend, en outre, un premier récipient comprenant un milieu de culture. Selon un mode particulier, le deuxième récipient est compris dans le premier récipient. Préférentiellement, le premier récipient est un sac stomacher®. Le sac stomacher® peut alors comprendre un filtre, entre le milieu de culture ou est placé l'échantillon alimentaire, et le moyen de transfert, afin d'éviter que des fragments de l'échantillon alimentaire ne bouche la première ouverture et empêche le transfert du milieu de culture du premier récipient vers le deuxième récipient .

20 L'invention concerne enfin un kit de détection et/ou d'identification de bactéries pour la mise en œuvre du procédé tel que défini précédemment.

Les figures ci-jointes sont données à titre d'exemple explicatif et n'ont aucun caractère limitatif. Elles permettront de mieux comprendre l'invention.

25 Ainsi, la figure 1 présente un premier mode de réalisation de l'invention, tel que présenté dans l'exemple 1. Le premier récipient (1) est un sac stomacher® comprenant un milieu de culture (2) dans lequel est placé l'échantillon, susceptible de contenir les

bactéries que l'on souhaite détecter et/ou identifier. Le deuxième récipient (4) comprend un système de détection (6) qui est un milieu liquide sélectif comprenant un indicateur formant un précipité lorsqu'il est en présence de la bactérie que l'on souhaite détecter et/ou identifier. Ce deuxième récipient est relié à un moyen de transfert (3), qui 5 plonge dans le milieu de culture (2) comprenant l'échantillon. Ce moyen de transfert comprend une première ouverture (7) au niveau du premier récipient (1) et une deuxième ouverture (8) au niveau du deuxième récipient (4). Un premier volume d'air (9) est circonscrit entre la deuxième ouverture (8) et le système de détection (6). Un deuxième volume d'air (16) est également circonscrit au sein du moyen de transfert (3) 10 entre la deuxième ouverture (8) et la première ouverture (7).

La figure 2 présente un autre mode de réalisation de l'invention, tel que présenté dans l'exemple 2. Le premier récipient (1) est un contenant ouvert comprenant un milieu de culture (2) dans lequel est placé l'échantillon que l'on souhaite analyser. Le moyen de transfert (3) est comparable à celui de la figure 1. Le deuxième récipient (4) comprend un premier volume d'air (9), tel que défini dans la figure 1, et une colonne de cellulose (10) dans laquelle est imbibé un milieu sélectif (5). Au sommet de la colonne de cellulose (10) est placé le système de détection (6) qui est un substrat chromogénique immobilisé passivement sur un disque de papier stérile.

La figure 3 présente un autre mode de réalisation de l'invention, tel que présenté dans l'exemple 3, qui trouve une application préférentielle lors de la détection de bactéries motiles. Le premier récipient (1) est un contenant ouvert comprenant un milieu de culture (2) dans lequel est placé l'échantillon que l'on souhaite analyser. Le moyen de transfert (3) est comparable à celui de la figure 1. Le deuxième récipient (4) comprend un premier volume d'air (9) tel que défini dans la figure 1, un milieu sélectif (5) semi solide, et un système de détection (6) qui est un substrat chromogénique immobilisé passivement sur un disque de papier stérile. Un cylindre (11) contraint, 25 après l'étape de transfert, les bactéries motiles à migrer à travers le milieu sélectif avant d'atteindre le système de détection.

La figure 4 présente un autre mode de réalisation de l'invention, tel que présenté dans l'exemple 4. Le premier récipient (1) est un contenant ouvert comprenant un milieu de culture (2) dans lequel est placé l'échantillon que l'on souhaite analyser. Le 30

moyen de transfert (3) est comparable à celui de la figure 1. Le deuxième récipient (4) comprend un premier volume d'air (9) tel que défini dans la figure 1, et un système de détection (6) qui est une bandelette d'immunochromatographie, bien connue de l'homme du métier, comprenant une première partie (12) contenant un conjugué anticorps anti bactéries marqué, une deuxième partie (13) qui est une membrane de chromatographie, sur laquelle on peut détecter un premier signal (14) caractéristique de la présence des anticorps anti bactéries que l'on souhaite détecter, et un deuxième signal (15), caractéristique de la présence d'un témoin positif. Le papier absorbant (17) permet la migration des bactéries, même si elles ne sont pas motiles.

La figure 5 présente un autre mode de réalisation de l'invention. Le premier récipient (1) est un tube d'analyse biologique comprenant un milieu de culture (2) dans lequel est placé l'échantillon que l'on souhaite analyser. Le deuxième récipient (4) comprend un premier volume d'air (9) tel que défini dans la figure 1, et un système de détection (6) et un milieu sélectif (5). Dans ce mode de réalisation, la première ouverture au niveau du premier récipient (1) et la deuxième ouverture au niveau du deuxième récipient (4) constituent la même ouverture : le moyen de transfert (3) se limite alors à cette même ouverture. Cette ouverture ne doit pas permettre le transfert spontané de milieu de culture entre le premier et le deuxième récipient.

Les exemples suivants sont donnés à titre illustratif et n'ont aucun caractère limitatif. Ils permettront de mieux comprendre l'invention.

Exemple 1- Détection de *Staphylococcus aureus* sur un milieu sélectif liquide comprenant un indicateur

Un dispositif de détection et/ou d'identification de bactéries présent dans un échantillon tel que présenté dans la figure 1 est utilisé dans cet exemple pour la détection de bactéries *Staphylococcus aureus*.

Pour cela, 225 ml de milieu de culture (2) (eau peptonée, bioMérieux, ref 42043) est introduit dans premier récipient (1) qui est un sac stomacher®, et 25 ml de lait, et le mélange est inoculé avec 3×10^4 cellules *Staphylococcus aureus*, selon un protocole classique tel que connu de l'homme du métier. Un test contrôle est obtenu par

l'utilisation de milieu de culture et de lait, tel que présenté ci dessus, mais non inoculé par *Staphylococcus aureus*. La partie supérieure d'une seringue de 25 ml est utilisé comme deuxième récipient (4) comprenant un premier volume d'air (9) de 13 ml. Un milieu sélectif (5) (Qi-Staph®, bioMérieux) est utilisé, et 3 ml de ce milieu sélectif sont 5 introduit à l'intérieur du deuxième récipient (4). Dans cet exemple, le système de détection (6) est un composé-indicateur (tellurite de potassium) qui permet l'apparition d'un précipité noir en présence de bactéries *Staphylococcus aureus*. Le moyen de transfert (3) utilisé dans cet exemple est un conduit, d'un diamètre interne de 1 mm et une longueur de 12 cm, dont 4 cm pénètrent à l'intérieur du deuxième récipient (4), tel 10 que présenté dans la figure 1. Ce moyen de transfert (3) comprend une première ouverture (7) qui est immergé dans le milieu de culture (2), et une deuxième ouverture (8) qui rentre à l'intérieur du deuxième récipient (4). Dans cet exemple, le deuxième récipient ne comprend qu'une seule ouverture, qui correspond à ladite deuxième ouverture (8) du moyen de transfert (3), et constitue de ce fait une enceinte fermée à 15 l'exception de l'ouverture (8). Comme présenté dans la figure 1, le deuxième récipient (4) et le moyen de transfert (3) sont placés dans le sac stomacher®. Ceci permet d'isoler le milieu de culture contaminé.

Le transfert du milieu de culture (2) comprenant les bactéries entre le premier récipient (1) et le deuxième récipient (4) est obtenu en plaçant l'ensemble du dispositif dans un 20 incubateur à 37°C pendant une heure. Cette incubation permet le pré-enrichissement du milieu de culture. Une incubation plus ou moins longue peut être réalisée selon la contamination de l'échantillon. L'intérieur du deuxième récipient (4) est alors à une température T₁ = 37°C. Puis, l'ensemble du dispositif est placé à une température de 15°C pendant une heure, afin que l'intérieur du deuxième récipient (4) soit à une température T₂ = 15°C. Cette diminution de température induit alors une diminution de pression au sein du deuxième récipient (4), qui permet le transfert d'un volume défini du milieu de culture (600 µl) du premier récipient (1) vers le deuxième récipient (4). L'ensemble du dispositif est ensuite maintenu durant 18h à 37°C, afin de permettre aux bactéries de métaboliser le substrat, induisant l'apparition d'un précipité au niveau du 25 système de détection (6). A noter que dans le deuxième récipient (4), le niveau de milieu sélectif (5) n'atteint pas la deuxième ouverture (8), entre le moyen de transfert 30

(3) et le deuxième récipient (5) : lors de l'aspiration, le milieu de culture (2) comprenant les bactéries *Staphylococcus aureus* aspiré est piégé à l'intérieur du deuxième récipient (4), et ne peut refouler dans le premier récipient (1), lorsque qu'on augmente de nouveau la température à l'intérieur du deuxième récipient (4). A la fin de cette incubation, un précipité apparaît au niveau du système de détection, confirmant la présence de *Staphylococcus aureus* lorsque le milieu de culture et le lait était inoculé par ces bactéries. Aucun précipité n'était observé dans le test contrôle.

Exemple 2 - Détection de bactéries *Salmonella typhimurium* sur une colonne de cellulose

Le premier récipient (1) est à celui décrit dans l'exemple 1, mais pourrait être tout type de premier récipient. Dans cet exemple, 225 ml de milieu de culture (2) BPW (eau peptonée) dans lequel sont dissous 25g de poudre de lait (issue du commerce) sont inoculés avec 3×10^2 cellules *Salmonella typhimurium*. Le deuxième récipient (4) et le moyen de transfert (3) utilisé dans cet exemple est présenté dans la figure 2 . Un test contrôle est réalisé tel que décrit dans l'exemple 1.

Pour le milieu sélectif (5), 0,5 millilitre de milieu de culture BPW contenant 20 µg de novobiocine sont imbibés sur une colonne de cellulose (10) de 2 cm de long et 0,7 cm de diamètre. Cette colonne de cellulose (10) est placé à l'intérieur du deuxième récipient (4), sans toutefois être en contact avec la deuxième ouverture (8) du moyen de transfert (3). Dans cet exemple, le deuxième récipient (4) ne comprend qu'une seule ouverture, qui correspond à ladite deuxième ouverture (8) du moyen de transfert (3), et constitue de ce fait une enceinte fermée à l'exception de l'ouverture (8). En haut de cette colonne de cellulose (10) est déposé le système de détection (6) qui est un substrat chromogénique, le 5-bromo-6-chloro-3-indoxyl octanoate (magenta C8) combiné à du nitro bleu tetrazolium (Sigma, N6639), immobilisé passivement sur un disque de papier stérile d'un diamètre de 5 mm (Wathman 3 Chr, ref 3030917). Le transfert du milieu de culture (2) comprenant les bactéries entre le premier récipient (1) et le deuxième récipient (4) est réalisé tel que décrit dans l'exemple 1, en plaçant l'ensemble du dispositif à 37°C pendant 1 heure, puis à 15°C pendant une heure. A la fin du transfert, les bactéries, en contact avec la colonne de cellulose diffusent jusqu'en haut de la

colonne, vers le système de détection où elles métabolisent le substrat, pour former un précipité noir. Les résultats positifs sont observé après 15h. Les résultats étaient négatifs lors du test contrôles.

5 **Exemple 3 - Détection de bactéries motiles *Salmonella typhimurium* sur un milieu sélectif semi solide**

Le premier récipient (1) est à celui décrit dans l'exemple 1, mais peut être tout type de premier récipient. Dans cet exemple, 225 ml de milieu de culture (2) BPW (eau peptonée), dans lequel sont dissous 25g de poudre de lait (issue du commerce) sont inoculés avec 3×10^4 cellules *Salmonella typhimurium*. Le deuxième récipient (4) et le moyen de transfert (3) utilisé dans cet exemple est présenté dans la figure 3. Un test contrôle est réalisé tel que décrit dans l'exemple 1.

A l'intérieur du deuxième récipient (4) sont déposés 3 ml de milieu semi solide (API M-medium®, bioMérieux, ref 50120) et utilisés comme milieu sélectif (5) comprenant 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de novobiocine, sans que le niveau de milieu sélectif (5) n'atteigne la deuxième ouverture (8), entre le moyen de transfert (3) et le deuxième récipient (5). La deuxième ouverture (8) et le système de détection (6) sont séparés par un cylindre (11), tel que présenté dans la figure 3 obligeant les bactéries à migrer à travers le milieu sélectif (5), ce qui fait que seules les bactéries résistantes et motiles parviennent au système de détection (6). Le système de détection (6) est un substrat chromogénique tel que décrit dans l'exemple 2.

Le transfert de salmonelles du premier récipient vers le deuxième récipient est réalisée, d'une façon comparable à l'exemple 1, en plaçant l'ensemble du dispositif à 37°C pendant 1 heure, puis à 15°C pendant une heure.

25 A la fin de l'étape de transfert, en maintenant l'ensemble du dispositif durant 16h à 37°C, un volume défini de milieu de culture (150 μl) comprenant les bactéries motiles est en contact avec le milieu sélectif (5), et les bactéries migrent à travers lui, jusqu'au système de détection (6). A la fin de cette incubation, la coloration du disque en noir confirme la présence de salmonelles, initialement présente dans le milieu de culture.
30 Aucun coloration n'était observée lors du test contrôle.

Exemple 4 - Détection de bactéries *Listeria monocytogenes* par immunochromatographie

Le premier récipient (1) est à celui décrit dans l'exemple 1, mais peut être tout type de premier récipient. Dans cet exemple, 250 ml de milieu de culture (2) (trypcase soya broth, bioMérieux, ref 44011 ; 6% de levure), sont inoculé avec 3×10^7 cfu/ml de *Listeria monocytogenes* 4b. Le deuxième récipient (4) et le moyen de transfert (3) utilisés dans cet exemple sont présentés dans la figure 4. Un test contrôle est réalisé d'une façon comparable mais sans inoculation par des bactéries.

A l'intérieur du deuxième récipient (4) est placé le système de détection (6) qui est une bandelette d'immunochromatographie bien connue de l'homme du métier. Un test contrôle est réalisé tel que décrit dans l'exemple 1.

Le transfert de *Listeria monocytogenes* du premier récipient (1) vers le deuxième récipient (4) est réalisée par l'incubation de l'ensemble du dispositif à une température T1 = 30 °C pendant une heure, puis une température T2 = 15°C pendant 45 min. A la fin du transfert, on peut détecter un premier signal (14) caractéristique de la présence d'une protéine présente dans le flagelle de *L. monocytogenes* par réaction avec des anticorps spécifiques et un deuxième signal (15), caractéristique de la présence d'un témoin positif et obtenu par l'utilisation d'anticorps anti IgG de souris. Lors du test contrôle, seul le deuxième signal pouvait être observé.

REFERENCES

1. premier récipient
2. milieu de culture comprenant l'échantillon
- 5 3. moyen de transfert
4. deuxième récipient
5. milieu sélectif
6. système de détection
7. première ouverture
- 10 8. deuxième ouverture
9. premier volume d'air
10. colonne de cellulose
11. cylindre
12. première partie
- 15 13. deuxième partie
14. premier signal
15. deuxième signal
16. deuxième volume d'air
17. papier absorbant

REVENDICATIONS

1. Procédé de détection et/ou d'identification de bactéries présentes dans un échantillon, liquide ou solide, caractérisé en ce que :
 - 5 a. on place, dans un premier récipient (1), l'échantillon susceptible de contenir lesdites bactéries dans un milieu de culture (2) liquide,
 - b. on dispose d'un deuxième récipient (4) comprenant au moins un système de détection (6) desdites bactéries,
 - c. on dispose d'un moyen de transfert (3) entre le premier récipient (1) et le deuxième récipient (2),
 - 10 d. on applique une température T1 à l'intérieur du deuxième récipient (4) puis,
 - e. on applique une température T2 à l'intérieur du deuxième récipient (4)
 - f. la température T1 est supérieure à la température T2 de sorte que l'on transfert un volume défini de milieu de culture (2) du premier récipient (1) vers le deuxième récipient (4),
 - 15 g. on détermine la présence ou l'absence de bactéries et/ou on identifie les bactéries au niveau du système de détection (6).

- 20 2. Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que le moyen de transfert (3) comprend au moins une première ouverture (7) au niveau du premier récipient (1) et au moins une deuxième ouverture (9) au niveau du deuxième récipient (4).
- 25 3. Procédé selon la revendication 2 caractérisé en ce que le deuxième récipient (4) circonscrit un premier volume d'air (9) entre la deuxième ouverture (8) et le système de détection (6) et/ou le moyen de transfert (3) circonscrit un deuxième volume d'air (16) entre la première ouverture (7) et la deuxième ouverture (8).
- 30 4. Procédé selon l'une quelconques des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que T1 est compris entre 25 et 45°C, préférentiellement entre 30 et 42°C

REVENDICATIONS

1. Procédé de détection et/ou d'identification de bactéries présentes dans un échantillon, liquide ou solide, caractérisé en ce que :
 - 5 a. on place, dans un premier récipient (1), l'échantillon susceptible de contenir lesdites bactéries dans un milieu de culture (2) liquide,
 - b. on dispose d'un deuxième récipient (4) comprenant au moins un système de détection (6) desdites bactéries,
 - c. on dispose d'un moyen de transfert (3) entre le premier récipient (1) et le deuxième récipient (4),
 - 10 d. on applique une température T1 à l'intérieur du deuxième récipient (4) puis,
 - e. on applique une température T2 à l'intérieur du deuxième récipient (4)
 - f. la température T1 est supérieure à la température T2 de sorte que l'on transfert un volume défini de milieu de culture (2) du premier récipient (1) vers le deuxième récipient (4),
 - 15 g. on détermine la présence ou l'absence de bactéries et/ou on identifie les bactéries au niveau du système de détection (6).
- 20 2. Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que le moyen de transfert (3) comprend au moins une première ouverture (7) au niveau du premier récipient (1) et au moins une deuxième ouverture (8) au niveau du deuxième récipient (4).
- 25 3. Procédé selon la revendication 2 caractérisé en ce que le deuxième récipient (4) circonscrit un premier volume d'air (9) entre la deuxième ouverture (8) et le système de détection (6) et/ou le moyen de transfert (3) circonscrit un deuxième volume d'air (16) entre la première ouverture (7) et la deuxième ouverture (8).
- 30 4. Procédé selon l'une quelconques des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que T1 est compris entre 25 et 45°C, préférentiellement entre 30 et 42°C

REVENDICATIONS

1. Procédé de détection et/ou d'identification de bactéries présentes dans un échantillon, liquide ou solide, caractérisé en ce que :
 - a. on place, dans un premier récipient (1), l'échantillon susceptible de contenir lesdites bactéries dans un milieu de culture (2) liquide,
 - b. on dispose d'un deuxième récipient (4) comprenant au moins un système de détection (6) desdites bactéries,
 - c. on dispose d'un moyen de transfert (3) entre le premier récipient (1) et le deuxième récipient (4),
 - d. on applique une température T1 à l'intérieur du deuxième récipient (4) puis,
 - e. on applique une température T2 à l'intérieur du deuxième récipient (4)
 - f. la température T1 est supérieure à la température T2 de sorte que l'on transfert un volume défini de milieu de culture (2) du premier récipient (1) vers le deuxième récipient (4),
 - g. on détermine la présence ou l'absence de bactéries et/ou on identifie les bactéries au niveau du système de détection (6).
- 20 2. Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que le moyen de transfert (3) comprend au moins une première ouverture (7) au niveau du premier récipient (1) et au moins une deuxième ouverture (8) au niveau du deuxième récipient (4).
- 25 3. Procédé selon la revendication 2 caractérisé en ce que le deuxième récipient (4) circonscrit un premier volume d'air (9) entre la deuxième ouverture (8) et le système de détection (6) et/ou le moyen de transfert (3) circonscrit un deuxième volume d'air (16) entre la première ouverture (7) et la deuxième ouverture (8).
- 30 4. Procédé selon l'une quelconques des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que T1 est compris entre 25 et 45°C, préférentiellement entre 30 et 42°C

5. Procédé selon l'une quelconques des revendications 1 à 4 caractérisé en ce que T2 est compris entre, préférentiellement entre 4 et 24 °C, préférentiellement entre 13 et 18°C.

5

6. Procédé de détection et/ou d'identification de bactéries présentes dans un échantillon, liquide ou solide, caractérisé en ce que :

10

- a. on place, dans un premier récipient (1), l'échantillon susceptible de contenir lesdites bactéries dans un milieu de culture (2) liquide,
- b. on dispose d'un deuxième récipient (4) comprenant au moins un système de détection (6) desdites bactéries,
- c. on dispose d'un moyen de transfert (3) entre le premier récipient (1) et le deuxième récipient (2),
- d. on applique une température T1 à l'intérieur du premier récipient (1) puis,
- e. on applique une température T2 à l'intérieur du premier récipient (1)
- f. la température T1 est inférieure à la température T2 de sorte que l'on transfert un volume défini de milieu de culture (2) du premier récipient (1) vers le deuxième récipient (4),
- g. on détermine la présence ou l'absence de bactéries et/ou on identifie les bactéries au niveau du système de détection (6).

15

7. Dispositif de détection et/ou d'identification de bactéries dans un échantillon comprenant

20

25

30

- un deuxième récipient (4), comprenant au moins un système de détection (6), et
- au moins un moyen de transfert (3) entre un premier récipient (1) et le deuxième récipient (4), ledit moyen de transfert comprenant au moins une première ouverture (7) au niveau du premier récipient (1) et au moins une deuxième ouverture (8) au niveau du deuxième récipient (4).

5. Procédé selon l'une quelconques des revendications 1 à 4 caractérisé en ce que T2 est compris entre, préférentiellement entre 4 et 24 °C, préférentiellement entre 13 et 18°C.

5

6. Procédé de détection et/ou d'identification de bactéries présentes dans un échantillon, liquide ou solide, caractérisé en ce que :

- a. on place, dans un premier récipient (1), l'échantillon susceptible de contenir lesdites bactéries dans un milieu de culture (2) liquide,
- b. on dispose d'un deuxième récipient (4) comprenant au moins un système de détection (6) desdites bactéries,
- c. on dispose d'un moyen de transfert (3) entre le premier récipient (1) et le deuxième récipient (8),
- d. on applique une température T1 à l'intérieur du premier récipient (1) puis,
- e. on applique une température T2 à l'intérieur du premier récipient (1)
- f. la température T1 est inférieure à la température T2 de sorte que l'on transfert un volume défini de milieu de culture (2) du premier récipient (1) vers le deuxième récipient (4),
- g. on détermine la présence ou l'absence de bactéries et/ou on identifie les bactéries au niveau du système de détection (6).

20

7. Dispositif de détection et/ou d'identification de bactéries dans un échantillon comprenant

25

- un deuxième récipient (4), comprenant au moins un système de détection (6), et
- au moins un moyen de transfert (3) entre un premier récipient (1) et le deuxième récipient (4), ledit moyen de transfert comprenant au moins une première ouverture (7) au niveau du premier récipient (1) et au moins une deuxième ouverture (8) au niveau du deuxième récipient (4).

30

5. Procédé selon l'une quelconques des revendications 1 à 4 caractérisé en ce que T2 est compris entre, préférentiellement entre 4 et 24 °C, préférentiellement entre 13 et 18°C.

5

6. Procédé de détection et/ou d'identification de bactéries présentes dans un échantillon, liquide ou solide, caractérisé en ce que :

- a. on place, dans un premier récipient (1), l'échantillon susceptible de contenir lesdites bactéries dans un milieu de culture (2) liquide,
- 10 b. on dispose d'un deuxième récipient (4) comprenant au moins un système de détection (6) desdites bactéries,
- c. on dispose d'un moyen de transfert (3) entre le premier récipient (1) et le deuxième récipient (4),
- d. on applique une température T1 à l'intérieur du premier récipient (1) puis,
- 15 e. on applique une température T2 à l'intérieur du premier récipient (1)
- f. la température T1 est inférieure à la température T2 de sorte que l'on transfert un volume défini de milieu de culture (2) du premier récipient (1) vers le deuxième récipient (4),
- g. on détermine la présence ou l'absence de bactéries et/ou on identifie les bactéries au niveau du système de détection (6).

20

7. Dispositif de détection et/ou d'identification de bactéries dans un échantillon comprenant

25

- un deuxième récipient (4), comprenant au moins un système de détection (6), et
- au moins un moyen de transfert (3) entre un premier récipient (1) et le deuxième récipient (4), ledit moyen de transfert comprenant au moins une première ouverture (7) au niveau du premier récipient (1) et au moins une deuxième ouverture (8) au niveau du deuxième récipient (4).

30

8. Dispositif selon la revendication 7 caractérisé en ce que le deuxième récipient (4) circonscrit un premier volume d'air (9) entre la deuxième ouverture (8) et le système de détection (6) et/ou le moyen de transfert (3) circonscrit un deuxième volume d'air (16) entre la première ouverture (7) et la deuxième ouverture (8).
5
9. Dispositif, selon la revendication 7 ou 8, caractérisé en ce que le moyen de transfert (3) est un conduit non capillaire.
10. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 7 à 9 caractérisé en ce qu'il comprend, en outre, un premier récipient (1) comprenant un milieu de culture.
11. Dispositif, selon la revendication 10, caractérisé en ce que le deuxième récipient (4) est compris dans le premier récipient (1).
15
12. Kit de détection et/ou d'identification de bactéries pour la mise en œuvre du procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6.

8. Dispositif selon la revendication 7 caractérisé en ce que le deuxième récipient (4) circonscrit un premier volume d'air (9) entre la deuxième ouverture (8) et le système de détection (6) et/ou le moyen de transfert (3) circonscrit un deuxième volume d'air (16) entre la première ouverture (7) et la deuxième ouverture (8).

5

9. Dispositif, selon la revendication 7 ou 8, caractérisé en ce que le moyen de transfert (3) est un conduit non capillaire.

10. Dispositif, selon l'une quelconque des revendications 7 à 9, caractérisé en ce que le deuxième récipient (4) est compris dans le premier récipient (1).

11. Kit de détection et/ou d'identification de bactéries pour la mise en œuvre du procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6.

8. Dispositif selon la revendication 7 caractérisé en ce que le deuxième récipient (4) circonscrit un premier volume d'air (9) entre la deuxième ouverture (8) et le système de détection (6) et/ou le moyen de transfert (3) circonscrit un deuxième volume d'air (16) entre la première ouverture (7) et la deuxième ouverture (8).

5

9. Dispositif, selon la revendication 7 ou 8, caractérisé en ce que le moyen de transfert (3) est un conduit non capillaire.

10. Dispositif, selon l'une quelconque des revendications 7 à 9, caractérisé en ce que le deuxième récipient (4) est compris dans le premier récipient (1).

11. Kit de détection et/ou d'identification de bactéries pour la mise en œuvre du procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6.

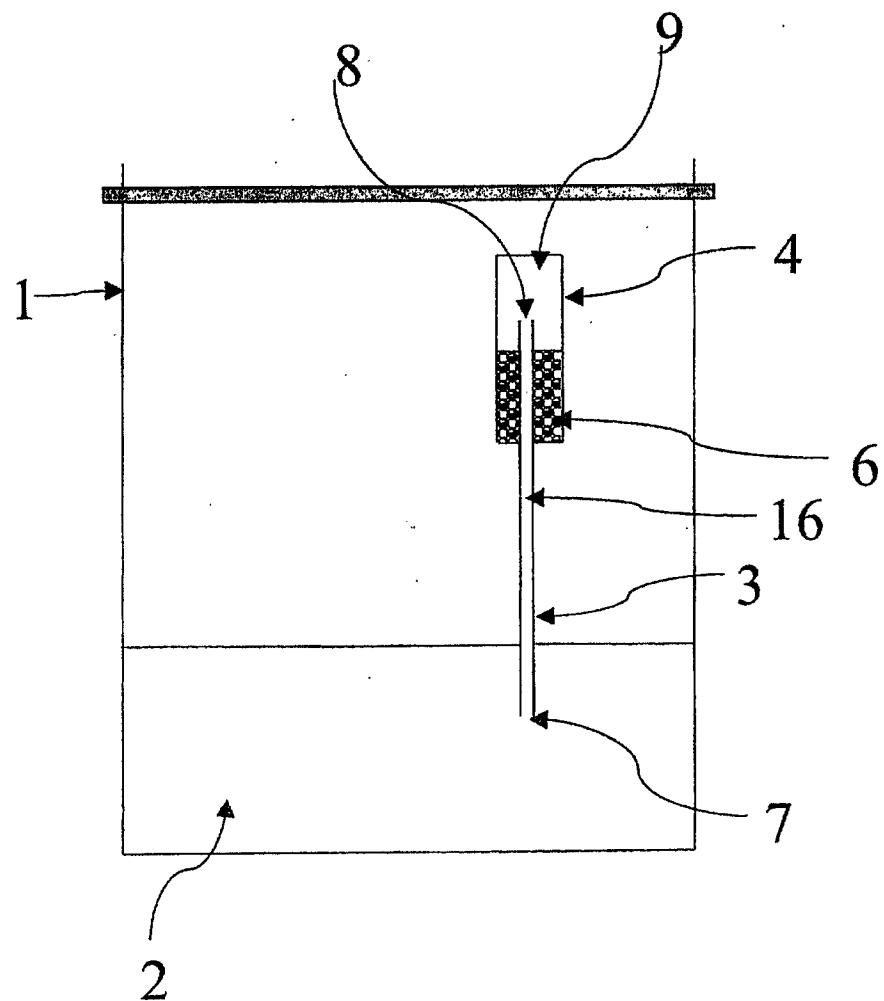


Figure 1

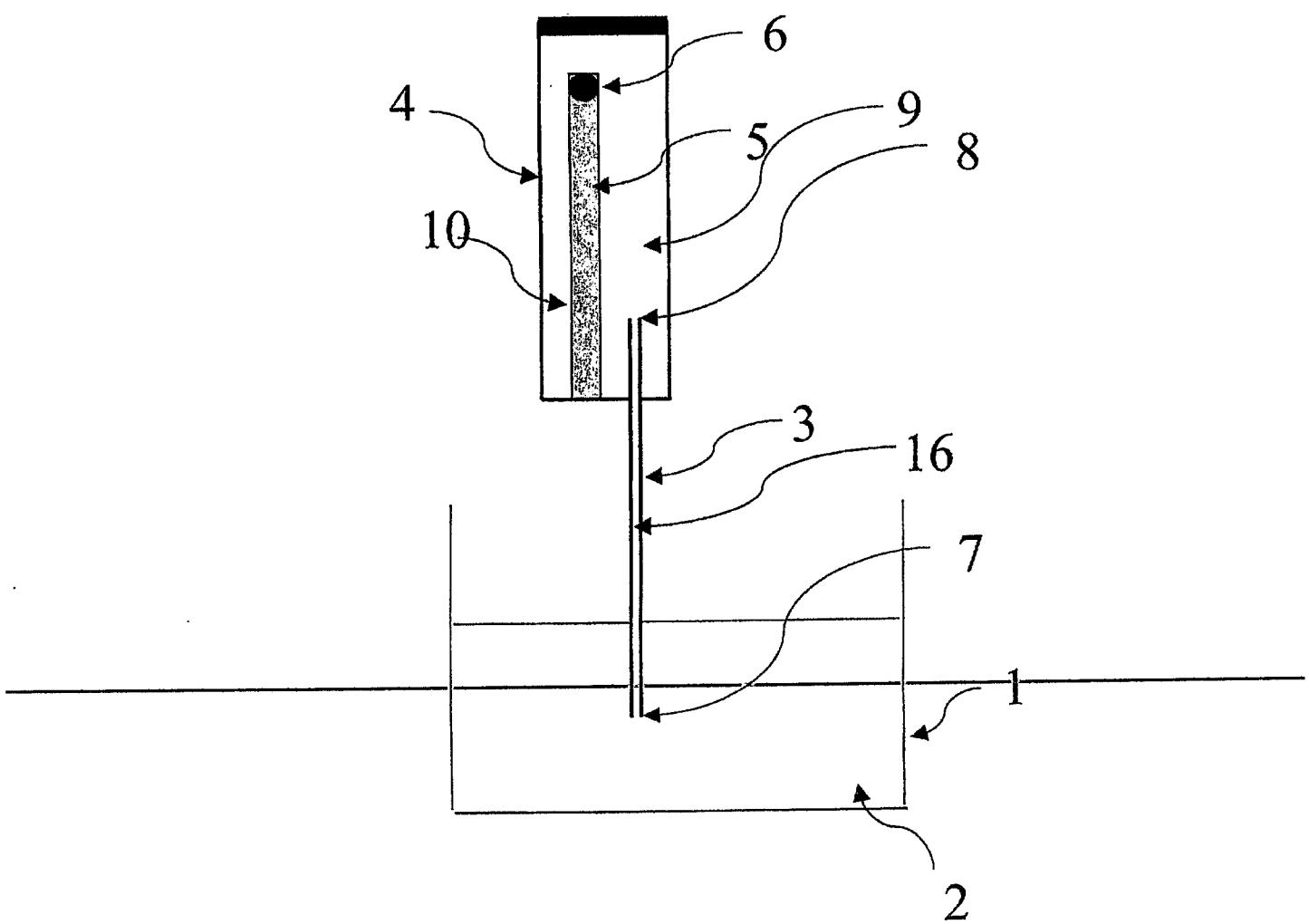


Figure 2

3/5

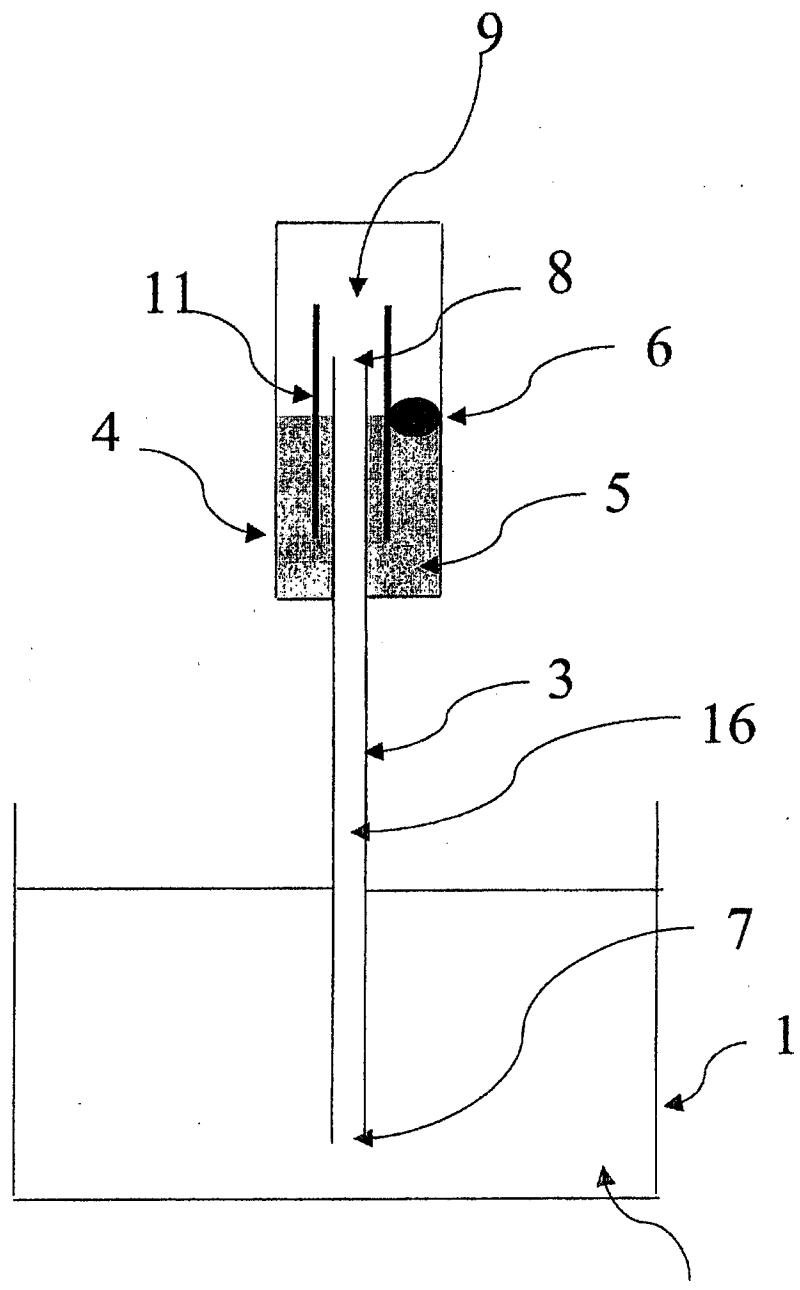


Figure 3

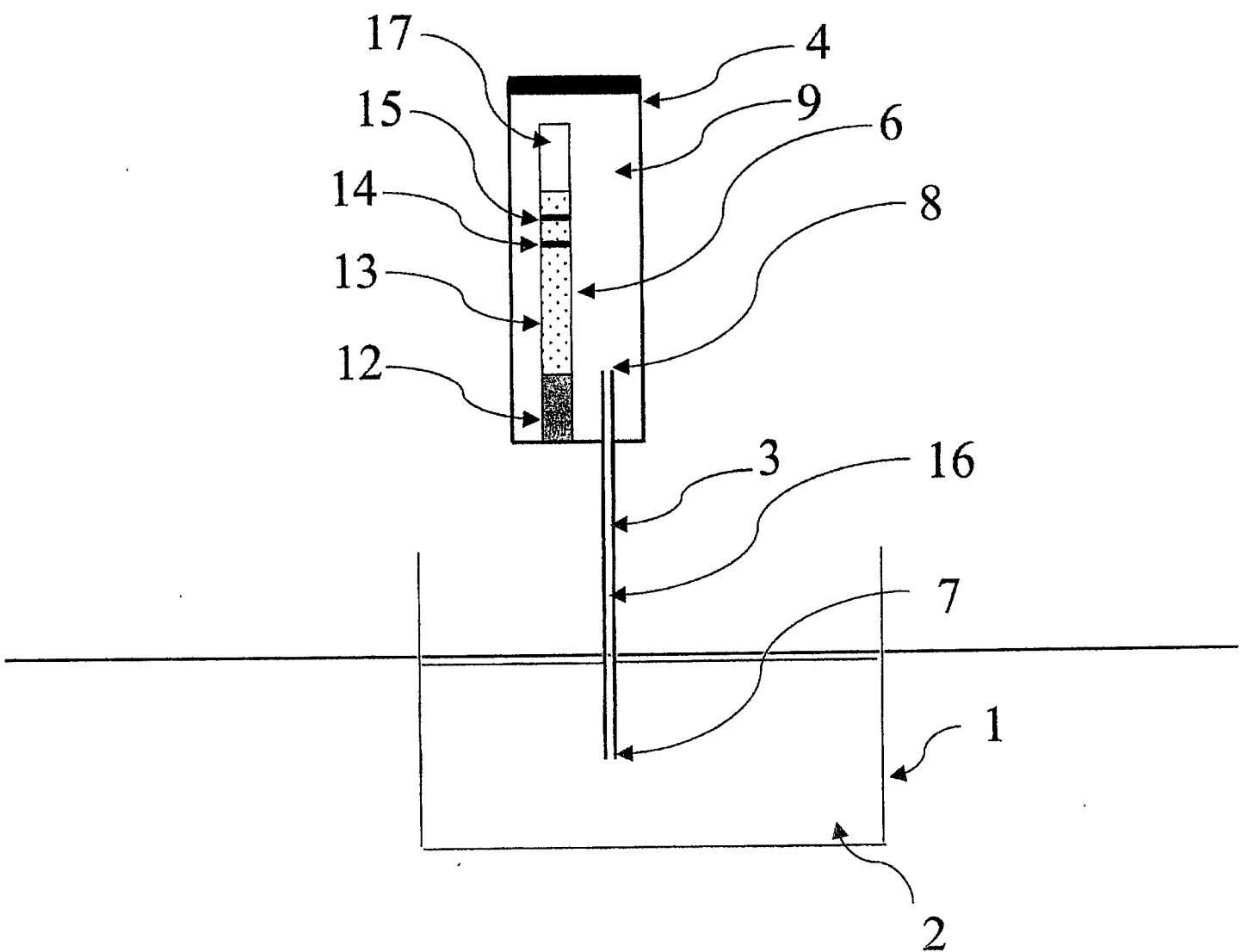


Figure 4

5/5

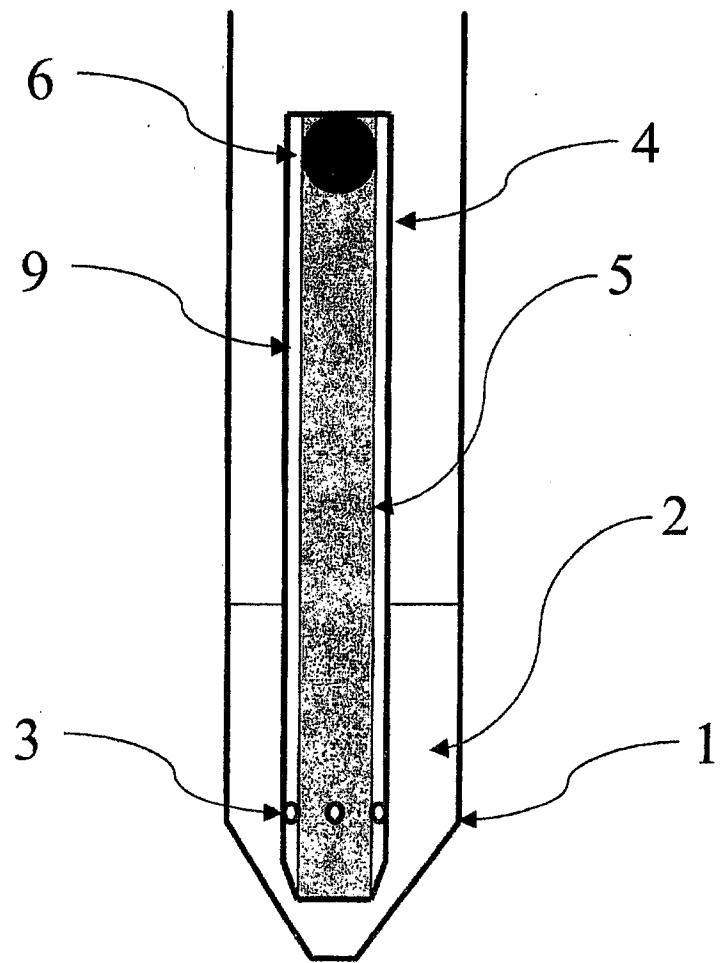


Figure 5



INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg - 75800 Paris Cedex 08

Pour vous informer : INPI DIRECT

► N° Indigo 0 825 83 85 87
0,15 € TTC/min

Télécopie : 33 (0)1 53 04 52 65

BREVET D'INVENTION**CERTIFICAT D'UTILITÉ**

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

N° 11235*03
**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S)** Page N° 1.../1...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 @ W / 210103

Vos références pour ce dossier (<i>facultatif</i>)	THERMASPI
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL	03 04 867

TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

Procédé de détection et/ou d'identification de bactéries présentes dans un échantillon

LE(S) DEMANDEUR(S) :

bioMérieux SA

DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :

1 Nom	MERCADER BADIA	
Prénoms	Josep Vicent	
Adresse	Rue	34 rue Lt Cl Girard
	Code postal et ville	69 010 LYON - FRANCE
Société d'appartenance (<i>facultatif</i>)		
2 Nom	COLIN	
Prénoms	Bruno	
Adresse	Rue	23-Chemin-des-Garennes
	Code postal et ville	69280 MARCY L'ETOILE - FRANCE
Société d'appartenance (<i>facultatif</i>)		
3 Nom	ATRACHE	
Prénoms	Vincent	
Adresse	Rue	52 Cours A. Briand
	Code postal et ville	69300 CALUIRE - FRANCE
Société d'appartenance (<i>facultatif</i>)		

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivie du nombre de pages.

DATE ET SIGNATURE(S)

le 3 avril 2003

DU (DES) DEMANDEUR(S)**OU DU MANDATAIRE**

(Nom et qualité du signataire)

Frédérique DENJEAN
Ingénieur Brevets



PCT/FR2004/050140

